

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman biji pala (*Myristica fragrans* H.)

Pala merupakan tanaman asli dari Indonesia yang dapat hidup lama, bahkan hingga ratusan tahun. Pala memiliki tangkai berukuran sedang dengan tinggi pohon hingga mencapai 18 m, berdaun bulat telur dan berwarna hijau sepanjang tahun. Pohon tumbuh subur di daerah tropis <700 mdpl, pada iklim lembab dan panas dengan curah hujan 2.000 hingga 3.500 mm/tahun tanpa musim kemarau yang sebenarnya (Nurdjannah, 2007). Panen pala pertama terjadi pada usia tanaman 7 hingga 9 tahun setelah pohon ditanam dan dapat bertahan hingga 60 tahun. Bagian buah pala yang dapat dipanen adalah biji, kulit biji, dan daging buah. Klasifikasi tanaman biji pala memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Myristicaceae
Genus	: <i>Myristica</i>
Spesies	: <i>Myristica fragrans</i> Houtt

Berdasarkan Winarti dan Nurdjanah (2005) biji pala memiliki khasiat untuk bisul, rematik, kolera, psikosis, kram perut, mual, muntah, diare, perut kembung, dan antidepresan. Penelitian Suloi dan Andi (2021) mengatakan bahwa pala berkhasiat sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antifungi. Kandungan kimia biji pala tergantung pada kondisi lingkungan tempat budidaya, penyimpanan benih, umur benih, dan metode analisis yang digunakan. Biji pala diolah menjadi dua jenis yaitu minyak atsiri dan minyak pala (Barceloux, 2009) dengan cara mengekstrak oleoresin dan penyulingan minyak atsirinya. Pada proses ini pala mampu menghasilkan kandungan minyak atsiri yang lebih tinggi, yaitu 8-10% (Peter, 2001).

B. Minyak Atsiri Biji Pala

Pala merupakan salah satu tanaman rempah yang memiliki permintaan pasar tinggi di pasar internasional serta memiliki nilai ekonomis tinggi. Buah pala terdiri dari beberapa bagian, yaitu daging

buah sebesar 77,8%, fuli sebesar 4%, tempurung sebesar 5,1%, dan biji sebesar 13,1% (Rini, 2019), bagian-bagian tersebut dapat dijadikan minyak pala (Ansory *et al.*, 2015).

Minyak atsiri pala didapat dengan metode destilasi uap dengan alasan lebih cepat dan kapasitas produksi minyak lebih banyak (Ansory *et al.*, 2015). Pengambilan minyak atsiri biji pala saat destilasi uap dikondisikan pada tekanan di bawah atmosfer karena biji pala memiliki kandungan minyak lemak, sebab dengan adanya penyulingan dengan tekanan tinggi dapat mengurangi mutu minyak atsiri, karena menyebabkan minyak lemak ikut tersuling (Hidayati *et al.*, 2015).

Kandungan minyak atsiri yang terdapat pada biji pala berkisar 5-15%. Senyawa miristisin adalah salah satu indikator persyaratan mutu minyak pala berdasarkan SNI 06-2388-2006 dengan kandungan minimum 10% miristisin pada minyak pala (Hasmita *et al.*, 2019).

1. Kandungan Minyak Atsiri Biji Pala

Minyak atsiri biji pala yang telah melewati uji analisis GC-MS, terdapat 31 kandungan senyawa pada minyak atsiri dengan kadar miristisin sebesar 12,94% (Ansory, *et al.*, 2020). Seperti ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Minyak Atsiri Biji Pala

No	Waktu Retensi (menit)	Kandungan Senyawa	Konsentrasi (%) Minyak Atsiri Biji Pala
1	9,661	α -pinen	1,41
2	10,008	α -pinen	20,96
3	10,557	Camphen	0,29
4	11,548	Sabinen	26,62
5	11,720	β -pinen	15,10
6	12,079	Mircen	2,08
7	12,583	4-(Bromometil) Cyclohexen	0,04
8	12,698	α -phellandren	0,50
9	12,773	β -ocimen	0,52
10	13,099	Alpha-terpinen	2,22
11	13,407	1-metil-2-(1-metiletil) benzen	0,31
12	13,582	Limonen	5,24
13	14,630	γ -terpinen	3,27
14	15,100	Sabinenhidrat	0,17
15	15,580	α -terpinolen	1,00
16	16,200	Linalool	0,15
17	17,010	1-terpineol	0,12
18	18,913	4-terpineol	3,71
19	19,431	α -terpineol	0,46
20	22,080	Bornil asetat	0,09
21	22,383	Safrol	1,15
22	22,649	Amilanisol	0,43
23	23,923	Mirtanilasetat	0,31
24	24,241	Eugenol	0,09
25	24,771	α -Copaen	0,46
26	25,496	Metileugenol	0,09
27	26,038	β -caryopillen	0,07
28	26,316	α -bergamoten	0,10
29	28,320	β -bisabolen	0,04
30	28,630	β -cadinen	0,06
31	28,858	Miristisin	12,94

C. Toksisitas

Uji toksisitas berfungsi untuk mengetahui tingkat toksik pada sistem biologi yang disebabkan oleh respon khas dari sediaan uji sehingga memperoleh hasil data respon sediaan tersebut. Data yang didapat diharapkan mampu memberikan informasi mengenai tingkat keamanan suatu sediaan uji dalam pengembangan IPTEK pada bidang kefarmasian (BPOM, 2022).

1. Uji toksisitas akut

Tes toksisitas akut oral berfungsi menentukan kerentanan organ target, memperoleh data bahaya setelah paparan akut terhadap bahan, memperoleh data awal yang dapat digunakan untuk menentukan dosis, merencanakan uji toksisitas selanjutnya, menentukan nilai LD50

sediaan. Toksisitas oral akut memiliki prinsip pengujian, yaitu dengan adanya pemberian dosis tertentu pada kelompok hewan percobaan, kemudian diamati efek toksik yang timbul pada hewan uji. Hewan yang dibunuh karena sekarat (menunjukkan tanda kesakitan) dihitung sebagai mati saat produk uji diberikan. Seluruh hewan uji baik yang mati selama percobaan maupun hidup hingga akhir dinekropsi untuk menilai tanda toksisitas. Pengujian toksisitas akut pada hewan percobaan diperlukan untuk mendeteksi efek toksik dalam waktu singkat setelah zat tersebut diberikan sebagai dosis tunggal atau dalam dosis berulang dalam waktu 24 jam, dengan pemberian berulang, dan selang waktu minimal 3 jam (BPOM, 2022).

LD₅₀ (*Lethal Dose 50*) merupakan tolak ukur yang dilihat secara statistik setelah sediaan dosis tunggal diberi kepada hewan uji yang digunakan untuk menyatakan tingkat dosis yang memberikan efek toksik dalam bentuk data kuantitatif, sedangkan bisa dikatakan data kualitatif jika dilihat dari gejala fisiologis, mekanisme toksik, dan gejala klinis (Jenova, 2009). Berikut ini merupakan kategori toksik penentuan uji toksisitas :

Tabel 2. Kategori toksik menurut T. A. Loomis (1978).

Kategori	LD ₅₀
Luar biasa toksik	1 mg/KgBB atau kurang
Sangat toksik	1-50 mg/KgBB
Cukup toksik	50-500 mg/KgBB
Sedikit toksik	500-5000 mg/KgBB
Praktis tidak toksik	5000-15000 mg/KgBB
Relatif kurang berbahaya	> 15000 mg/KgBB

2. Metode Penelitian

Hewan uji diberikan dosis secara bertahap, yaitu 5, 50, 300 dan 2000 mg/kg (dosis dapat ditingkatkan menjadi 5000 mg/kg). Berdasarkan uji pendahuluan, dipilih dosis awal sebagai dosis yang dapat menimbulkan gejala toksik ringan tetapi tidak menimbulkan efek toksik berat atau kematian. Proses ini berlanjut sampai dosis toksik tercapai, atau paling banyak satu kematian diamati, atau tidak ada efek toksik yang teramati pada dosis tertinggi, atau kematian terjadi pada dosis yang lebih rendah (BPOM, 2022).

D. Organ Sasaran

Pemeriksaan postmortem dari semua hewan mati dan beberapa hewan hidup diamati secara makroskopik dengan menimbang organ.

Menimbang organ akan menentukan apakah kematian terjadi segera setelah bahan kimia diberikan, dan berat organ juga merupakan indikator toksisitas yang berguna. Penimbangan berat organ sendiri tidak memiliki hal yang signifikan karena setiap organnya memiliki indeks yang berbeda. Organ yang sering kali ditimbang adalah ginjal, hati, jantung, usus, dan lambung (Lu, 1995).

1. Hati

Hati adalah kelenjar terbesar di tubuh, dengan berat 1,5 kg (2,5% dari berat badan orang dewasa normal). Secara anatomi, hati letaknya di tulang rusuk ketiga anterior di rongga perut. Permukaan depan hepar dibatasi oleh diafragma, sedangkan belakang oleh lambung dan duodenum (Green, 1996). Price dan Wilson (2006) menyatakan bahwa fungsi utama hati adalah pembentukan dan sekresi empedu, selain itu hati berperan dalam metabolisme karbohidrat, protein, lipid, penyimpanan vitamin dan mineral, metabolisme steroid, dan detoksifikasi.

2. Ginjal

Ginjal mampu mengatur keseimbangan cairan, elektrolit, dan asam-basa tubuh dengan menyaring darah, menyerap air, elektrolit, dan non-elektrolit secara selektif, dan mengeluarkan kelebihanannya sebagai urin. Ginjal juga mampu mengeluarkan produk sisa metabolisme (misal urea, kreatinin, dan asam urat) dan bahan kimia asing bagi tubuh. Renin dapat mengatur tekanan darah, vitamin D, kalsium, dan protein eritrosit (Price dan Wilson 2006). Pemeriksaan ginjal dapat bersifat makroskopik, dapat dilakukan dengan menimbang ginjal dan menentukan toksisitas akut dan subkronis pada akhir penelitian (Lu, 1995).

3. Jantung

Jantung mampu memompa darah ke seluruh tubuh. Jantung terdiri dari empat ruang utama, atrium kanan untuk reservoir darah dan saluran darah dari pembuluh darah sirkulasi sistemik ke ventrikel kanan dan dari jantung ke paru-paru, atrium kiri menerima darah yang kaya O₂ dari paru-paru melalui empat vena pulmonalis, ventrikel kanan menciptakan tekanan negatif yang mampu mendorong darah ke dalam arteri pulmonalis, ventrikel kiri menghasilkan tekanan tinggi untuk mengatasi resistensi sirkulasi sistemik dan melanjutkan aliran darah ke jaringan perifer (Price dan Wilson 2006).

4. Lambung

Lambung terbagi menjadi beberapa bagian, yaitu fundus, korpus, dan antrum pilorus. Lambung terdiri dari empat lapisan yaitu tunika serosa, muskularis, submukosa, dan mukosa (Price dan Wilson 2006).

5. Paru-paru

Paru-paru adalah organ dengan struktur elastis, memiliki peran penting dalam sistem pernapasan dengan mekanisme pertukaran gas karbon dioksida dengan oksigen antara darah dan atmosfer (West, 2004).

E. Tinjauan Hewan Uji

1. Sistematika mencit (*Mus musculus*)

Sistematika hewan uji menurut Nugroho (2018) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Veterbrata
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

2. Karakteristik utama mencit

Mencit merupakan hewan uji percobaan yang banyak digunakan dalam penelitian laboratorium, yaitu 40 hingga 80% pengujian menggunakan hewan uji mencit, hal ini terjadi karena mencit memiliki banyak keunggulan, yaitu umur yang relatif pendek, jumlah keturunan yang banyak per kelahiran, variabilitas sifat yang tinggi, dan kemudahan penanganan (Suckow et al., 2001). Tikus pada dasarnya adalah omnivora, sehat, kuat, ukuran kecil, penurut, mudah diperoleh, harga relatif murah, dan penggunaan dosis perlakuan yang rendah (Rejeki et al., 2018).

3. Pemilihan mencit

Pemilihan hewan uji adalah hewan uji yang bebas dari patogen karena apabila hewan uji teridentifikasi patogen maka akan mempengaruhi hasil uji penelitian. Hewan uji harus dapat memberikan reaksi imunitas serta sensitivitas yang baik terhadap suatu penyakit. Nutrisi, kebersihan dan pemeliharaan serta kesehatan hewan uji harus

dijaga dan terkontrol dengan baik. Dalam perkembangbiakan hewan uji harus dipastikan bahwa keturunan yang dihasilkan bebas dari parasit, instalasi hewan uji dipastikan dapat memelihara hewan dengan baik sehingga hewan uji dapat memenuhi syarat sebagai hewan uji penelitian (Tolistiawaty, 2014).

4. Pemeliharaan mencit

Mencit terkadang dapat menggigit siapa saja yang memegangnya, sehingga diperlukan teknik penanganan khusus. Reproduksi mencit dapat dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti kondisi kandang, lingkungan, makanan, minuman, serta tempat tidur (Rejeki *et al.*, 2018). Mencit juga membutuhkan karantina, stabilisasi, dan aklimatisasi untuk mencapai hasil yang optimal sebagai hewan laboratorium. Gangguan adaptasi dapat menghasilkan hasil statistik berbeda secara signifikan dari hasil penelitian dan menyebabkan data tidak akurat (Conour, 2006).

F. Landasan Teori

Lebih dari 80% populasi di dunia bergantung pada obat tradisional dan produk herbal untuk hidup sehat (Oluyemisi *et al.*, 2012). Tanaman pala adalah salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia yang memiliki nilai ekonomis tinggi di pasar internasional.

Tanaman pala berasal dari Indonesia, dikenal sebagai tanaman rempah-rempah yang sangat potensial sebagai sumber minyak atsiri serta dikembangkan sebagai produk jadi seperti parfum, kosmetik, sabun, pasta gigi, industri makanan, dan obat-obatan (Junaidi *et al.*, 2021). Semua khasiat yang dimiliki minyak pala ini tidak lepas dari kandungan kimia yaitu α -pinen sebesar 20%, miristisin sebesar 6 hingga 8%, dan komponen lainnya (Sohilait, 2010).

Penelitian Prajindra (2021) menyatakan bahwa minyak atsiri biji pala sebagai antidepresan dengan dosis miristisin 10 mg/Kg, namun belum dilakukan uji toksisitas lanjutan untuk mengetahui tingkat keamanan minyak atsiri biji pala. Salah satu uji toksisitas untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa yaitu uji toksisitas akut. Pengamatan yang dilakukan adalah setiap gejala klinis yang timbul setelah perlakuan, pengamatan indeks organ, dan pengamatan perubahan makropatologi terhadap organ hewan uji (Lambung, ginjal, hati, dan jantung), dan

pencatatan jumlah hewan uji yang mengalami kematian, uji ini dilaksanakan dengan memberikan zat dengan berbagai tingkat dosis selama 24 jam (BPOM, 2022). Sehingga pada penelitian ini ingin mengetahui efek toksik akibat pemberian minyak atsiri biji pala pada hewan uji mencit putih jantan (*Mus musculus*).

G. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Nilai LD₅₀ minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans* H.) lebih dari 5000 mg/KgBB mencit, termasuk dalam klasifikasi senyawa praktis tidak toksik.
2. Minyak atsiri biji (*Myristica fragrans* H.) dapat mempengaruhi perubahan perilaku mencit putih jantan.
3. Minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans* H.) dapat mempengaruhi berat badan dan makropatologi organ mencit putih jantan.